

Identificación y análisis funcional de genes implicados en la homeostasis de níquel en la bacteria endosimbiótica de leguminosas *Rhizobium leguminosarum*.

Rubio-Sanz, L.¹, Prieto, R.I.², Imperial, J.³, Palacios, J.M.² y Brito, B.². e-mail: belen.brito@upm.es

¹Departamento de Química y Análisis Agrícola, E.U. Ingeniería Técnica Agrícola, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, y Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP). ²Departamento de Biotecnología, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid y CBGP. ³Consejo Superior de Investigaciones Científicas y CBGP, Campus de Montegancedo, Pozuelo de Alarcón, 28223 Madrid.

La asociación *Rhizobium*-leguminosa constituye una interacción planta-microorganismo particularmente beneficiosa a nivel medioambiental debido a su capacidad promotora del crecimiento vegetal en condiciones de deficiencia de nitrógeno. Se ha demostrado que una excesiva concentración de metales pesados en el suelo afecta negativamente la competitividad bacteriana y al desarrollo de interacciones diazotróficas eficientes (Chaudri et al., 2000; Pereira et al., 2006). Por otro lado, el suministro de metales como Fe, Mo, Ni o Cu es fundamental para la biosíntesis de enzimas bacterianas relacionadas con el proceso de fijación de nitrógeno que ocurre en el interior de los nódulos de las leguminosas (Moreau et al., 1995). Con objeto de identificar sistemas génicos implicados en la homeostasis de níquel en bacterias endosimbióticas, se ha llevado a cabo una mutagénesis mediante inserción aleatoria de un minitransposón derivado de Tn5 en *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* UPM1137, una cepa capaz de resistir elevadas concentraciones de níquel y cobalto. Como resultado de esta mutagénesis se han obtenido 14 mutantes incapaces de crecer en medios suplementados con NiCl₂. La localización de la inserción en estos mutantes muestra que una elevada proporción de los genes afectados codifican proteínas de membrana o proteínas secretadas. En paralelo, se ha obtenido la secuencia del genoma de la cepa UPM1137, lo que permite realizar estudios *in silico* comparando los genomas disponibles de varias cepas de *R. leguminosarum* bv. *viciae*, que presentan una menor sensibilidad a metales. El análisis bioinformático de los genomas secuenciados y la caracterización fenotípica de los mutantes obtenidos permitirá identificar potenciales sistemas de resistencia y su contribución a la homeostasis de metales.

Chaudri, A.M., et al., A study of the impacts of Zn and Cu on two rhizobial species in soils of a long-term field experiment. 2000, Plant Soil. 221:167-179.

Pereira, S.I.A., et al., Heavy metal toxicity in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* isolated from soils subjected to different sources of heavy-metal contamination: effects on protein expression. 2006, Applied Soil Ecology. 33: 286-293.

Moreau, S., et al., Uptake of iron by symbiosomes and bacteroids from soybean nodules. 1995, FEBS Letters. 361:225-228.